

ные шейные узлы расположены преимущественно между мышцами шеи впереди плечевого сустава, а глубокие вдоль трахеи. Поверхностный шейный лимфатический узел у овцы обнаруживается в единственном числе, чаще овальной формы, реже бобовидной. Располагается снаружи, впереди от краниального края лопатки и возле плече - лопаточного сочленения. В него поступает лимфа из головы, грудных конечностей и передней части туловища. Краниальные глубокие шейные узлы парные и расположены по бокам трахеи, за глоткой и имеют бобовидную форму. Они принимают глубокие отводящие лимфатические сосуды из задней части глотки, из гортани, передней части пищевода. Кaudальные шейные лимфатические узлы, как правило, представлены одиночным крупным узлом, имеющим округлую форму. Этот узел располагается на вентральной стороне каудального конца шеи, при входе в грудную полость, ближе к сагиттальной линии тела. Он принимает лимфу глубоких отводящих сосудов, имеющих корни в заднем отделе трахеи, пищевода, а также шейного отдела зобной железы, частично из щитовидной железы и вентральных шейных мускулов.

При изучении лимфатических узлов легких овцы установлено следующее: Легочные лимфатические узлы лежат цепочками непосредственно вдоль долевых бронхов. Они имеют овальную, округлую, реже бобовидную формы. К узлам идут афферентные сосуды, собирающие лимфу из паренхимы легких. Правый и левый бронхиальные лимфатические узлы имеют округлую овальную и бобовидно – приплюснутую форму. Эти узлы лежат на ветвях главных бронхов в области ворот легкого и окружены жировой клетчаткой. В некоторых случаях они могут располагаться непосредственно возле бифуркации трахеи. Левый трахеобронхиальный лимфатический узел имеет бобовидную, овальную и лентовидную формы. Данный лимфатический узел расположен в пространстве образованном: краниально - каудальной стенкой аорты, каудально- левой ветвью главного бронха, дорсально – вентральной поверхностью дуги аорты, вентрально – дорсальной поверхностью легочных артерий. Слева узел ограничен соединительной тканью, справа – находится левая стенка трахеи. Узел собирает лимфу из трахеи, верхушечных долей легкого и сердца. Краниальные средостенные лимфатические узлы у овец овальной или бобовидной формы. Чаще они располагаются в пространстве, ограниченном: дорсально – вентральной поверхностью трахеи, вентрально – дорсальной стенкой краниальной полый вены, справа – соединительной тканью и частично стенкой плечевого ствола. К узлам идут афферентные лимфатические сосуды от трахеи, пищевода, сердца и бронхиальных лимфатических узлов. Аортальные грудные лимфатические узлы расположены между 7 - 9 грудными позвонками в пространстве, ограниченном: дорсально – вентральной поверхностью мышц позвоночного столба, вентрально – дорсальной стенкой аорты, справа и слева – межреберными артериями и венами. Кaudальные средостенные лимфатические узлы чаще всего имеют лентовидно-трехгранную форму, реже овально-сплюснутую. Они лежат в посткардиальном средостении, ограниченном: дорсально – вентральной

стенкой аорты, вентрально – стенкой пищевода, справа и слева – ограничены соединительной тканью средостения. К этим узлам подходят афферентные сосуды с латеральных и медиальных поверхностей диафрагмальных долей легких, а также пищевода и диафрагмы.

Таким образом, в процессе данного исследования лимфатического русла шеи и легких овец красноярской тонкорунной породы установлена топография регионарных лимфатических узлов этих органов.

#### **Структурные особенности лимфангионов некоторых органов пищеварительной системы овцы в постнатальном онтогенезе**

Чумаков В.Ю., Складнева Е.Ю., Медкова А.Е.,  
Новицкий М.В., Тюдишева О.И.

*Хакасский государственный университет  
им. Н.Ф.Катанова, Абакан*

В ходе исследования были рассмотрены лимфангионы интра- и экстраорганных лимфатических сосудов глотки, сетки, книжки, сычуга, а так же ободочной кишки овец красноярской тонкорунной породы.

Применялись следующие методики изучения лимфатического русла: внутритканевая инъекция лимфатического русла цветными массами, изготовление гистологических срезов и просветленных препаратов из оболочек органов, тотальных препаратов из сосудов, световая и электронная микроскопия.

При исследовании установлено, что все лимфатические сосуды данных органов состоят из цепочек лимфангионов. Каждый лимфангион представляет собой участок лимфатического сосуда между двумя клапанами, один из которых принадлежит данному лимфангиону, а другой – последующему.

Лимфангионы интраорганных сосудов данных органов, а так же экстраорганных сосудов глотки и ободочной кишки в большинстве имеют эллипсоидную, цилиндрическую и удлинено-овальную форму. Наиболее часто встречаемая форма лимфангионов афферентных сосудов сетки, книжки и сычуга – грушевидная и конусовидная.

Наиболее крупными являются лимфангионы афферентных лимфатических сосудов книжки и сычуга, а самыми маленькими – лимфангионы отводящих сосудов (первого порядка) листочков книжки.

Структурно в лимфангионах каждого из данных органов различают три части: мышечную манжетку, клапанный синус и область прикрепления клапана.

Наиболее часто в лимфангионах данных органов встречаются двухстворчатые, гораздо реже одно- и трехстворчатые клапаны полулунной формы. Самые крупные клапаны обнаружены в лимфангионах экстраорганных сосудов ободочной кишки, а так же сычуга. Клапаны всех исследованных лимфангионов представляют собой дубликатуру эндотелия их внутреннего слоя. Миоциты в створках клапанов лимфангионов изученных органов нами обнаружены не были. В афферентных лимфангионах сычуга была обнаружена мышца лимфатического клапана.

Стенка лимфангионов состоит из трех слоев. Внутренний слой лимфангионов данных органов со-

стоит из сплошного слоя эндотелиоцитов, лежащего на тончайшей эластической мембране. Средний слой лимфангионов состоит из двух-трех слоев миоцитов, которые ориентированы продольно, поперечно и спирально. Наружный слой лимфангионов содержит в своем составе коллагеновые и эластические волокна.

Отмечено, что количество миоцитов лимфангионов данных органов положительно коррелирует с возрастом животного и порядковостью сосудов. Наибольшее количество миоцитов (на единицу площади) обнаружено в стенке эфферентных лимфатических сосудов ободочной кишки, затем (в порядке убывания) – сычуга, книжки, сетки и глотки. Меньше всего миоцитов содержат внутриорганные сосуды глотки. Обнаружено, что в интраорганных лимфангионах всех органов миоциты ориентируются преимущественно по типу «пологой спирали» (под углом менее 45 градусов к его продольной оси), а в экстраорганных – по типу «крутой спирали» (угол более 45 градусов).

Коллагеновые и эластические волокна в лимфангионах данных органов формируют пучки с «запасными складками», сплетающиеся в сети. Количество соединительнотканых волокон в лимфангионах данных органов зависит от возраста животного и порядковости сосуда. Чем старше животное и чем выше порядок сосуда, тем более развиты в их лимфангионах коллагеновые и эластические волокна.

Таким образом нами установлены возрастные и локальные особенности лимфангионов глотки, сетки, книжки, сычуга и ободочной кишки овец красной тонкорунной породы.

#### Биологические свойства *msbB* мутантов *Y. pestis*

Шайхутдинова Р.З., Мокриевич А.Н., Дентовская С.В., Анисимов А.П.

ГНЦ прикладной микробиологии, Оболensk

Липоолигосахарид (ЛОС – липополисахарид (ЛПС) R-типа, лишенный O-полисахаридных цепей) – один из важнейших факторов патогенности *Y. pestis*. Активным центром ЛОС является липид А, с которым связывают токсические свойства молекул ЛПС (Luderitz *et al.*, 1973). Гидрофобная часть липида А состоит из двух b-1,6-связанных остатков D-глюкозамина, ацилированных жирными кислотами по гидроксильным и аминогруппам. Жирнокислотные остатки первого порядка также могут быть ацилированы по гидроксильным группам. Структура ЛПС (ЛОС), в частности, строение липида А определяется условиями среды, окружающей микроорганизм во время его роста (Книрель, Кочетков, 1993). Показано, что повышение температуры культивирования приводит к уменьшению количества жирных кислот в липиде А *Y. pestis* (Kawahara *et al.*, 2002; Knirel *et al.*, 2003). Вместе с тем, показано, что ЛОС штаммов *Y. pestis*, выращенных при температуре 28 °С более токсичен для мышей, чем ЛОС штаммов *Y. pestis*, выращенных при температуре 37 °С (Зюзина и др., 2002).

Генетические аспекты синтеза ЛПС наиболее полно изучены на моделях *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*. Установлены кластеры генов, опре-

деляющие биосинтез липида А, кора и O-антигена. Одним из этапов синтеза липида А является процесс ацилирования, в котором участвует целый ряд ацилтрансфераз. Ацилтрансфераза *MsbB* отвечает за присоединение шестого жирнокислотного остатка к пентаацильным вариантам ЛПС (ЛОС) (Raetz, Whitfield, 2002). Мутация по гену *msbB* в клетках *E. coli* и сальмонелл приводила к снижению их вирулентности (токсичности) на три-четыре порядка (Raetz, Whitfield, 2002).

Целью исследования было получение штаммов *Y. pestis*, мутантных по *msbB* гену и изучение их биологических свойств.

На основе суицидного вектора pCVD442 (Donnenberg, M.S. and Kaper, J.B., 1991) создали рекомбинантную плазмиду pMSB3K, содержащую в своем составе фрагмент хромосомной ДНК *Y. pestis* KM215 с *msbB* геном, в котором 0,66 kb участок структурного гена был замещен 1,264 kb *Bam*HI-фрагментом из плазмиды pUC4K, обеспечивающим устойчивость к канамицину. Полученная плазида передана методом электропорации в штамм *E. coli* S17, который обладает *tra* геном, необходимым для эффективной конъюгативной передачи плазмид, содержащих *mob* ген. Далее методом конъюгации плазида pMSB3K передана в ряд реципиентных штаммов *Y. pestis*. Из трансконъюгантов при выращивании в условиях, приводящих к потере суицидного вектора, отобраны мутанты, образующиеся в результате гомологичной рекомбинации участка хромосомы, содержащей интактный *msbB* ген с его мутантной аллелью в суицидном векторе. Наличие мутации подтверждено методом ПЦР.

Полученные мутанты практически не росли на агаре Хоттингера, в присутствии канамицина. Выращивание на той же среде без хлорида натрия в присутствии канамицина или на агаре Хоттингера без канамицина приводило к более эффективному росту. Скорость миграции ЛОС, выделенного из мутантных штаммов, при электрофоретическом разделении была выше, чем у ЛОС из штаммов "дикого" типа, что подтверждает меньшую степень ацилирования молекул ЛОС из рекомбинантных штаммов. Чувствительность мутантов к катионному антибиотику-полимиксину по сравнению с исходными штаммами, была более чем на два порядка выше. Мутантные клетки и препараты ЛОС, выделенные из них, были в 4-10 раз менее токсичны для мышей, сенсibilизированных актиномицином D.

Работа выполнена в рамках партнерского проекта Международного научно-технического центра (ISTC) #1197p, поддержанного программой Cooperative Threat Reduction Департамента Оборона США.